



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
LAS HOJAS de *Psidium guajava* L. SOBRE *Listeria monocytogenes*
ATCC 19118 COMPARADO CON AMPICILINA**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR

IVAN JOEL ARECHE MEDINA

ASESORES

Mgtr. DAVID RENÉ RODRÍGUEZ DÍAZ

Mgtr. JAIME POLO GAMBOA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRASMISSIBLES

Trujillo – Perú

2019



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

PÁGINA DE JURADO

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS de *Psidium guajava* L.
SOBRE *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 COMPARADO CON AMPICILINA**

Dra. ANA MARIA CHIAN GARCIA

Presidente de jurado

Mgtr. DAVID RENÉ RODRÍGUEZ DÍAZ

Secretario de jurado

Dra. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

Vocal de jurado

Trujillo, marzo del 2019

DEDICATORIA

A mis padres, por ser el pilar fundamental en mi vida. Quienes han velado por mí durante este arduo camino y que por sus consejos han sabido guiarme para convertirme en un profesional.

A mis hermanos, por su apoyo incondicional y comprensión que siempre me han brindado por este esfuerzo y logro. Además por creer en mí y enseñarme más cosas de las cuales yo pude aprender, siendo mis mejores aliados en todas mis batallas.

Iván Joel Areche Medina

AGRADECIMIENTO

A DIOS

Por guiar mis pasos y estar siempre cuando más lo necesito y ser parte de mi vida llenando mi corazón de fe y esperanza, por mantenerme firme y no decaer durante es gran esfuerzo, por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A Mis Asesores: Dra. María Rocío Del Pilar Llaque Sanchez, Mg. David René Rodríguez Díaz y Mg. Jaime Abelardo Polo Gamboa, por su gran ayuda, dirección, paciencia y Colaboración en cada momento permitieron alcanzar los objetivos de esta tesis.

A La Universidad, institución que me brindó la oportunidad de realizar mis Estudios académicos recibiendo siempre el apoyo necesario para concluir de Manera exitosa mi carrera.

A mis docentes, personas de gran sabiduría quienes se han esforzado por Ayudarme a llegar al punto en que me encuentro, a través del compartir De Sus conocimientos he logrado importantes objetivos siendo el mayor De ellos la culminación del desarrollo de mi tesis.

Iván Joel Areche Medina

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, IVAN JOEL ARECHE MEDINA con DNI 40507870, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS de *Psidium guajava* L. SOBRE *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 COMPARADO CON AMPICILINA**. Son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, marzo del 2019

IVAN JOEL ARECHE MEDINA

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS de *Psidium guajava* L. SOBRE *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 COMPARADO CON AMPICILINA**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para el título Profesional de Médico Cirujano.

Iván Joel Areche Medina

ÍNDICE

PAGINAS PRELIMINARES

PÁGINA DE JURADO	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	iv
PRESENTACIÓN	v
ÍNDICE.....	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	9
1.2. TRABAJOS PREVIOS.....	10
1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA.....	12
1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	15
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	15
1.6. HIPÓTESIS	16
1.7. OBJETIVOS	16
1.7.1. OBJETIVO GENERAL	16
1.7.2. OBJETIVO ESPECÍFICO	16
II. METODOLOGIA	17
2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:	17
2.2. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN.....	17
2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	19
2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD	20
2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS	20
2.6. ASPECTOS ÉTICOS:	21
III. RESULTADOS	22
IV. DISCUSIÓN	26
V. CONCLUSIÓN.....	28
VI. RECOMENDACIONES	29
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
VIII. ANEXO.....	35

RESUMEN

Se realizó un estudio experimental in vitro con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L sobre cepas de *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 comparado con ampicilina a 10 µg, en un estudio in vitro. Se realizaron 4 diluciones del extracto (al 100%, 75%, 50%, 25%) y un control negativo con agua destilada (DMSO). Los resultados muestran que no se obtuvieron halos de inhibición a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L sobre cepas de *Listeria monocytogenes* ATCC 19118, y ampicilina mostró un halo de inhibición de 30,70 mm (DS: 1.3mm, IC 95%: 29.74 - 31.66). Según ANOVA los resultados del estudio fueron altamente significativos ($p = 0.000$). Así mismo la prueba post ANOVA de TUKEY analizó la homogeneidad de grupos, demostró que la *Listeria Monocytogenes* no era sensible al extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L. pero si fue sensible para ampicilina (según $CLSI \geq 17mm$). Por lo que se concluye que el extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L no tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Listeria monocytogenes* ATCC 19118.

Palabra clave: antibacteriano, extracto etanólico de *Psidium guajava* L “Guayaba”, ampicilina, *Listeria monocytogenes*.

ABSTRACT

An experimental in-vitro study was conducted to evaluate the antibacterial effect of ethanol extract of *Psidium guajava* L leaves on strains of *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 compared with ampicillin at 10 µg, in an in-vitro study. Four dilutions of the extract (100%, 75%, 50%, 25%) and a negative control with distilled water (DMSO) were performed. The results show that no zones of inhibition were obtained at different concentrations of the ethanol extract of *Psidium guajava* L leaves on strains of *Listeria monocytogenes* ATCC 19118, and ampicillin showed a zone of inhibition of 30.70 mm (SD: 1.3mm, 95% CI: 29.74 - 31.66). According to ANOVA the results of the study were highly significant ($p=0.000$). Likewise, post-ANOVA Tukey-test analyzed the homogeneity of groups, showing that *Listeria Monocytogenes* was not sensitive to ethanol extract of the leaves of *Psidium guajava* L. but was sensitive to ampicillin (according to $CLSI \geq 17mm$). It is therefore concluded that ethanol extract of the leaves of *Psidium guajava* L. has no antibacterial effect on strains of *Listeria monocytogenes* ATCC 19118.

Keywords: antibacterial, ethanol extract of *Psidium guajava* L "Guayaba", ampicillin, *Listeria monocytogenes*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

Las especies de *Listeria* están muy diseminadas en el medio ambiente, recogiendo de la descomposición de materia vegetal, aguas servidas, pollo fresco y refrigerado, alimentos procesados, queso, leche no pasteurizada, desechos de los desolladeros, de igual modo en el tubo digestivo de animales y humanos asintomáticos. Por ello tiene muchas oportunidades de contaminar alimentos, por lo que el humano adquiere la infección o colonización. De hecho, se encuentra como parte de la flora fecal de muchos mamíferos, estimándose que entre 1% y 10% de los humanos son portadores a nivel intestinal de *L. monocytogenes*. La infección causa desde gastroenteritis febril a enfermedad invasiva, que incluye bacteriemia, sepsis, meningitis y meningoencefalitis, en pacientes con factores de riesgo. Otras menos frecuentes son: endocarditis, linfadenitis, celulitis, neumonía, osteomielitis, artritis, conjuntivitis.¹

La listeriosis, enfermedad zoonótica, que en los humanos está causada por la bacteria *Listeria monocytogenes* y un 5% de casos se manifiesta en forma de brotes, transmitida por alimentos, de notificación obligatoria, que puede ser de difícil diagnóstico. Luego de la salmonelosis es la segunda causa más frecuente de muertes relacionadas con infecciones transmitidas por alimentos en Europa y EE.UU. De acuerdo con la publicación Morbidity and Mortality Weekly Informe, hubo 1651 casos en los Estados Unidos entre 2009 y 2011. La incidencia fue de 3/100.000 en Mujeres embarazadas y 1.3/100.000 en adultos con Neoplasia o inmunosupresión.^{1,2,3}

Se evaluó la presencia de *L. monocytogenes* en queso y leche fresca, distribuidos en la provincia de Trujillo, Perú (2009-2010). Se evaluaron 60 muestras tanto de queso fresco como de leche fresca. Se concluyó que solamente el microorganismo estaba presente, en queso fresco en un porcentaje de 3,34%.⁴

El extracto de las hojas de *Psidium guajava* L. tuvo actividad frente a bacterias de amplio espectro, al estudiarse 20 cepas de bacterias de interés médico. Resultando que el extracto alcohólico, cetónico y acuoso presentaron actividad en un 65%, 100% y 35% respectivamente.⁵

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Thiyagarajan S. (Arabia saudita, 2015) investigó la propiedad antibacteriana de las hojas de *Psidium guajava* L. causantes de diarrea. Se analizaron cuatro extractos: etanol, metanol, acetato de etilo y extracto de agua caliente de hoja. El etanólico mostró un halo de inhibición de 15 a 18mm y 20 a 22mm para *E. coli* a concentraciones de 750 y 1000µg/ml; y el metanólico de 18 a 19mm y 25mm a 27mm respectivamente. El extracto de etanol y metanol sobre cepas de *V.choleraea* las mismas concentraciones, de 14 a 19mm y 19 a 22mm, y 23 a 30mm respectivamente. Sobre cepas de *Salmonella spa* la concentración de 1000µg/ml, de 12 a 14mm y 28 a 30mm respectivamente. Se demostró que el extracto de metanol de *P. guajava* L. podría considerarse como una alternativa adecuada y segura para desarrollar un fármaco potencial para combatir estos patógenos bacterianos.⁶

Biswas B. (USA, 2013) evaluó la actividad antimicrobiana del extracto de *Psidium guajava* para 2 enterobacterias: *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*; 2 Gram (+): *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* que son transmitidas por los alimentos. Las hojas fueron extraídas en 4 disolventes diferentes (hexano, Metanol, etanol y agua). Los extractos mostraron actividad inhibitoria contra Gram (+), mientras que las otras bacterias fueron resistente a los extractos. El extracto etanólico presentó efecto en *B. cereus* y *S. aureus* con zona de inhibición de 6.11 ± 0.60 , 11.0 ± 0.52 mm frente a *B. cereus* y *S. aureus*, respectivamente. Se demuestra el potencial antimicrobiano de las hojas de *Psidium guajava* y sugiere que hay compuestos que contienen propiedades que pueden suprimir efectivamente el crecimiento cuando se extrae utilizando metanol o etanol como disolvente.⁷

Egharevba, H. et al (Nigeria, 2010) evaluaron la actividad antibacteriana de 4 extractos de las hojas de *Psidium guajava*, el acuoso de metanol, metanol, acetato de etilo, hexano. Se ensayaron in vitro para detectar actividad frente a microorganismos de cepas estándar y aislados clínicos. Resultó que los extractos tienen una actividad variable frente a *Listeria monocitogenes* con zonas de inhibición de 25, 30, 27 y 0 mm a CMI de 2,5 mg/dl respectivamente. Este estudio corrobora su amplia aplicación tradicional para problemas gastrointestinales e infecciones respiratorias.⁸

Goncalves FA. et al (Brasil, 2008) analizaron el efecto antimicrobiano del aceite Oleoso, metanólico, hexanólico, extractos de etanoato de etilo de las hojas de guayaba. Se probaron contra las bacterias causantes de diarrea: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* Y *Escherichia coli*. Las cepas de *S. aureus* fueron más inhibidas por los extractos. El extracto de metanol mostró mayor halo de inhibición bacteriana de 9.25 mm. Y el *S. aureus* mostro ser resistente a ampicilina y sensible a cefalotina, Cloramfenicol, Lincomycin, Vancomycina. Estos datos respaldan el uso de guayaba hechos en hojas en los casos de diarrea donde el acceso a antibióticos comerciales está restringido. En conclusión, los extractos de hojas de guayaba y el aceite esencial son muy activos contra *S. aureus*, constituyendo así importantes fuentes potenciales de nuevos compuestos antimicrobianos.⁹

Mahfuzul MD. et al (Bangladesh, 2007) determinaron la actividad antibacteriana de los extractos de *Psidium guajava L* (guayaba) y *Azadirachta indica* (neem) contra 21 cepas de patógenos alimentarios entre ellas a 5 cepas de *Listeria monocytogenes*. Se determinaron la concentración mínima de inhibidores (MIC), concentración bactericida mínima (MBC) y la zona de diámetro de inhibición en cada extracto contra las cepas mencionadas, y la gentamicina. El extracto etanólico de *Psidium guajava* (hojas) sobre listeria monocytogenes, se halló la zona de inhibición 21.9 ± 0.26 mm, mientras que para la gentamicina fue 22.9 ± 0.56 mm. Se concluyó que los extractos de guayaba y neem mostraron mayor actividad antimicrobiana contra las bacterias Gram-positivas en comparación con las bacterias Gram-negativas.¹⁰

Rogério N. et al (Brasil, 2005) evaluaron la actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanol: agua de hojas, raíces y corteza del tallo de *Psidium guajava L*. Las actividades antibacterianas de los extractos contra bacterias fueron Probado usando el ensayo de microdilución. Los extractos acuosos de hojas de *P. guajava*, raíces y corteza del tallo fueron activos contra las Gram (+) *Staphylococcus aureus* (CMI=500,125y250mg/cc, respectivamente) y *Bacillus subtilis* (CMI = 500 mg / cc) y prácticamente inactiva frente a los Gram (-) *E. coli* y *P. aeruginosa* (CMI> 10^3 mg / cc). Los extractos de etanol: H₂O mostraron mayor actividad antimicrobiana que en comparación con extractos acuosos.¹¹

Abdelrahim S. (Sudán, 2002) realizó el estudio de los extractos metanólicos *Psidium guajava* sobre microorganismos estándar *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* en el resultado mostró zonas de inhibición de 18, 20, 22, 20mm sobre dichas bacterias respectivamente confirmando que poseen propiedades anti-bacterianas.¹²

Vieira R. et al (Brasil, 2001) reportaron el efecto microbiocida del extracto de la *P. guajava* (etanol, acetona y agua) sobre *E. coli* y *S. aureus* toxigénico, realizado mediante difusión radial. Los extractos preparados al 20%, 50%, 60%, 80% de Alcohol el efecto se percibió a través de la presencia de halos de 18 a 32 mm para el primero y de 20 a 30 mm para el último; y el extracto al 20%, 50%, 60%, 80% de acetona percibió de 15 a 30 mm para ambas especies de bacterias respectivamente.¹³

Vega Basauri. (Perú, 2013) estudió la sensibilidad antimicrobiana de diferentes tipos de *Listeria (monocytogenes, innocua y ivanovii)* frente a 11 antibióticos. El cultivo se realizó en Agar Mueller Hinton, luego se realizó una suspensión bacteriana. Se utilizó el método de difusión de disco en agar encontrándose como resultados de la ampicilina sobre *L. monocytogenes* con zonas de inhibición: 37 mm, 38.5 mm, 22 mm, 36 mm, 34 mm, 22 mm, 27 mm.¹⁴

1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

La *Psidium guajava* L conocida como guayaba pertenece a los *Myrtaceae*, genero *Psidium*, especie *guajava* mide de 3 a 5 m de alto; tallos ramificados; flores blancas de 2 - 3 cm de diámetro, y el cáliz en forma de copa con 5 pétalos amarillos, corola con 5 sépalos, con numerosos estambres y ovario ínfero; Las hojas son largas, simples y elípticas de 8 a 14 cm de largo y 2 a 6 cm de ancho y un peciolo de no más de 1cm; el fruto es comestible de color amarillo a rosa de unos 5 cm de diámetro, liso, globoso, con pulpa rosada y semillas; Las raíces son fuertes. La composición de la planta varía en función del origen geográfico, y las hojas de la *guajava* son inocuas. Esta planta medicinal es usada en países de Brasil, Cuba, Ghana, Haití, India, México, Perú formando un papel importante en la medicina natural por su actividad antimicrobiana y su uso es tradicionalmente como antidiarreico y para cólicos intestinales.^{15,16,17}

El efecto antibacteriano de la *Psidium guajava* L. se da por la presencia de flavonoides en la composición química, se cree que sus componentes tienen efecto sinérgico. La quercetina por sus efectos espasmolítico, antioxidantes, antibacterianos e antiinflamatorios y guajaverin por sus efectos antibacterianos. La acción antibacteriana que realiza la quercetina es la interrupción de la membrana celular y de la inactivación de proteínas intracelulares. El guajaverin de las hojas de *Psidium guajava* tiene efecto bacteriostático inhibiendo el crecimiento de las bacterias.^{15,16,17}

La *Psidium guajava* L. se distribuye en el Perú en climas tropicales y subtropicales como Cajamarca, cerro de Pasco, Loreto, Huánuco, San Martín, Ucayali, Junín, Lima, Cuzco y Amazonas. También desde México y Centroamérica, hasta Sudamérica. La zona ecológica está localizada en la franja paralela al Ecuador y habita en países con clima tropicales.^{16,17}

La composición química del género *Psidium* muestra la presencia de saponinas, sapgeninas, elagitánicos y triterpenos. Además, vitamina C, cariofileno, carbohidratos, taninos, flavonoides, triterpenoides, esteroides, alcaloides, benzofenona, galoil-glicósido, guajaverin, quercetin-glicósidos, morin-3-O-lixósido, el morin-3-O-arabinósido.^{15,16,17}

Las propiedades medicinales de las hojas *Psidium guajava* L. es usado como astringentes, odontalgias, para controlar diarreas y gastroenteritis; la corteza para el dolor de estómago, edemas, hemorragias, disentería, antidiarreico; frutos para disenterías y diarreas; semillas, se prepara una pasta para casos de acné en el rostro; Anti protozoario (Entamoeba, Giardia, Trichomonas); hemostático, antiséptico, cicatrizante, sedante, antioxidante, anti inflamación, antidiabético, hepatoprotectora, tos, bronquitis.^{16,17,18}

Listeria monocytogenes, se agrupa en forma de cadenas cortas, en parejas o en forma aislada, pertenece al grupo de bacilo Gram positivo (0,4 a 0,5 × 0,5 a 2 µm) sin ramificación y anaerobio facultativo con capacidad de multiplicarse a temperaturas extremas.^{19,20}

La clasificación serológica se realiza solamente en laboratorios de referencia y con fines de estudios epidemiológicos. Los serotipos 1/2a, 1/2b y 4b son más del 95% de las cepas de seres humanos. El 4b produce en su mayoría los brotes epidémicos transmitidos en los alimentos.^{19,20}

L. monocytogenes entra en el cuerpo por el tracto digestivo al ingerir alimentos contaminados como quesos o verduras. Estos mediante adhesinas se fijación a las células hospedadoras interactuando con la E-caderina, favoreciendo la fagocitosis hacia las células epiteliales. El proceso infeccioso se inicia en el enterocito o la célula M de las placas de Peyer después de ser fagocitado la bacteria es envuelta en un fagolisosoma y en un pH bajo produce listeriolisina O la cual produce lisis de la membrana del fagolisosoma de esta manera el microorganismo escapa hacia el citoplasma de la célula hospedadora (célula epitelial, macrófago y hepatocito), luego las bacterias son liberadas para luego diseminarse y el ciclo comienza de nuevo.^{19,20}

La Enfermedad clínica neonatal, la granulomatosis infantiséptica es la *listeriosis* grave de comienzo precoz, se caracteriza por presentar abscesos y granulomas en varios órganos. La de comienzo tardío después de 2 o 3 semanas del nacimiento se presenta bajo la forma de meningitis, meningoencefalitis con septicemia. Las infecciones en mujeres embarazadas se producen en el tercer trimestre cuando la inmunidad celular está más alterada y padecen típicamente síntomas seudogripales. La enfermedad en adultos sanos se manifiesta en forma leve de tipo gripal en otros desarrolla una gastroenteritis aguda autolimitada, caracterizada por diarrea acuosa, fiebre, náuseas, cefalea, mialgias y artralgias. Meningitis en adultos es la forma más frecuente de infección por *Listeria* diseminada en adultos (20-50%).^{19,20}

El diagnóstico se realiza mediante el aislamiento de la bacteria en hemocultivos, líquido cefalorraquídeo, líquido peritoneal, placenta y otros de acuerdo con las manifestaciones clínicas.^{19,20} En el tratamiento los antibióticos de primera línea para *L. monocytogenes*, es la penicilina o ampicilina o combinado con gentamicina. Los antimicrobianos de segunda línea recomendados en caso de alergia a betalactámicos son trimetoprim/sulfametoxazol, vancomicina, e incluso linezolid. La duración del tratamiento de la *listeriosis* por lo general es de al menos 2 semanas en la bacteriemia primaria en el inmunocompetente y de hasta 4 a 6 semanas en otras presentaciones invasivas según el sitio afectado.^{19,20}

El extracto etanólico es una sustancia concentrada de consistencia líquida que se Obtiene de una planta por distintos procedimientos.²⁰ La *Psidium guajava* L. son árboles de arbustos verdes con hojas opuestas, simples, ovaladas y Flores solitarias, cáliz urceolado con 4-5 lóbulos y fruto en baya globosa o piriforme.^{16,17}

La ampicilina es un antibiótico semi-sintético (penicilinas) de amplio espectro, y son bactericidas contra Gram positivas y Gram negativas.²¹ Se determina Inhibición a aquella Zona alrededor del disco donde una sustancia antibacteriana es capaz de inhibir el crecimiento bacteriológico después de 18 a 24 horas de procesamiento de incubación.²³

1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L “Guayaba” tienen efecto antibacteriano sobre cepas de *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 comparado con ampicilina a 10 µg, en un estudio in vitro?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La existencia de estudios nacionales e internacionales acerca de las plantas superiores que eran fuentes de productos naturales a menudo tenía funciones específicas y mucho de ellas tuvieron actividades biológicas que fueron útiles para los seres humanos. Tuvieron que constituirse en moléculas para el desarrollo de nuevos fármacos que se utilizaron para tratar diversas enfermedades o convertirse en herramientas indispensables en la investigación biomédica. Además, el hombre a través de la historia busco aliviar o curar sus dolencias, lo cual dirigió sus esfuerzos en la búsqueda constante de nuevos medicamentos, de plantas medicinales que aliviaran sus malestares motivando la domesticación de un gran número de especies vegetales. Se eligió estudiar a la *Psidium guajava* L. “Guayaba” por ser una planta con bondades medicinales y propiedades bactericidas y antiparasitarias, el cual motivó mi interés de realizar este estudio con la finalidad de conocer que efecto tiene las hojas de *Psidium guajava* L sobre la cepa *Listeria monocytogenes*.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo sirvieron para reforzar las actividades de educación, investigación e información. Así mismo este presente estudio servirá como información para próximas investigaciones que permitan establecer o corroborar el uso de plantas medicinales sobre alguna enfermedad.

1.6. HIPÓTESIS

H₁: El extracto etanólico de la hoja de *Psidium guajava* L “Guayaba”, tiene efecto antimicrobiano comparado con ampicilina a 10 µg. sobre cepas de *Listeria monocytogenes* ATCC 19118, en un estudio in vitro.

H₀: El extracto etanólico de la hoja de *Psidium guajava* L “Guayaba”, no tiene efecto antimicrobiano comparado con ampicilina a 10 µg. sobre cepas de *Listeria monocytogenes* ATCC 19118, en un estudio in vitro.

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L sobre cepas de *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 comparado con ampicilina a 10 µg, en un estudio in vitro.

1.7.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- Establecer el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L “Guayaba” al 100%.
- Establecer a el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L “Guayaba” al 75%.
- Establecer el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L “Guayaba” al 50%.
- Establecer el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L “Guayaba” al 25%.
- Determinar el efecto antibacteriano de la ampicilina a 10 µg.

II. METODOLOGIA

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básico

DISEÑO DE INVESTIGACION: experimental con repeticiones múltiples, post prueba

RG1 X1 O1

RG2 X2 O2

RG3 X3 O3

RG4 X4 O4

RG5 X5 O5

RG6 X6 O6

Dónde:

RG: Grupo de estudio: 06

X1: dilución del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava L* al 100%.

X2: dilución del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava L* al 75%.

X3: dilución del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava L* al 50%.

X4: dilución del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava L* al 25%.

X5: Tratamiento antibacteriano, ampicilina a 10 µg.

X6: Control negativo: DMSO.

O: Las observaciones.

2.2. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN

Variable Independiente: tratamiento antimicrobiano.

a) Agente antibacteriano no farmacológico: extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava L*.

b) Agente bacteriano farmacológico: ampicilina 10 µg.

Variable Dependiente: efecto antibacteriano

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V.I: tratamiento antibacteria no para <i>Listeria monocytoge nes</i>	Es el método para inhibir el crecimiento de la bacteria. ^{22,23} a) Tratamiento no farmacológico : extracto etanólico de las hojas de <i>Psidium Guajava</i> . ²² b) Tratamiento farmacológico con ampicilina. ²³	La población será dividida en los siguientes grupos: a) Extracto etanólico de las hojas delas <i>Psidium guajava</i> al 100% b) Extracto etanólico de las hojas delas <i>Psidium guajava</i> al 75% c) Extracto etanólico de las hojas delas <i>Psidium guajava</i> al 50% d) Extracto etanólico de las hojas delas <i>Psidium guajava</i> al 25% e) Ampicilina 10ug f) DMSO	G1 G2 G3 G4 G5 G6	Cualitativa nominal
V.D: efecto antibacteria no sobre <i>Listeria monocytoge nes</i> .	Capacidad de lograr el efecto que se desea o se espera. ²²	Se considera eficaz si: a) Halo de inhibición ≥17mm b) disminución del halo de inhibición <17mm Según el CLSI: Sensible ≥ 17mm Intermedio: 14 -16mm Resistente ≤ 13mm	Si efecto ≥17mm. No efecto <17 mm	Cualitativa nominal

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACION: constituido por un conjunto cepas de *Listeria monocitogenes* ATCC 19118 cultivado en laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo.

MUESTRA:

Tamaño muestra:

Por tratarse de un trabajo experimental se empleó la fórmula estadística de diferencia de promedio sobre halos de inhibición, para hallar el número de placas necesarias que validen la investigación. Se obtuvo aplicando la siguiente fórmula estadística ²⁴. Para el presente estudio el número de repeticiones resulto 7 (pero se consideraron 10 repeticiones para cada tratamiento administrado) se realizaron 60 observaciones.²⁵

Anexo 1

$$n = \frac{(z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

n= 6,62 =7

Unidad de análisis: Cada cepa de *Listeria monocitogenes* ATCC 19118 cultivada en laboratorio.

Unidad muestral:

Cada placa de cultivo de *Listeria monocitogenes* ATCC 19118.

Muestreo: se evaluaron las cepas en crecimiento de cada placa Petri.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión:

- Cepas o muestra estándar de *Listeria monocitogenes* ATCC 19118.
- Placas con Agar Mueller – Hinton con 4 mm de altura

Criterios de exclusión:

- Placa Petri contaminada.
- Cepas inertes

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: Consistió en la observación directa de los cultivos en las placas Petri

PROCEDIMIENTO:(Ver Anexo 02)

- a. Certificación de la planta por el herbariumtruxillense de la universidad nacional de Trujillo.
- b. El método para la obtención del extracto etanólico de las hojas de la *Psidium guajava* L se obtuvo mediante la técnica de maceración.
- c. Técnica de cultivo se utilizó el agar sangre.
- d. Método para determinar sensibilidad mediante disco de difusión de kirby Bauer y criterios contemplados en los estándares M45 del estándar de CLSI.^{25,26}

INSTRUMENTO:

El instrumento que se utilizó es la ficha de recolección de datos que consistió en observar las placas, diluciones y halos de inhibición a las 24 h. (Ver Anexo 03).

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

El instrumento estuvo validado por 3 profesionales.quienes verificarán los datos obtenidos luego validado por el estándar CLSI.²⁷ (Ver Anexo 04)

2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

La información obtenida fue tabulada en una ficha Excel, y luego se analizaron en el programa SPSS versión 25. Para los gráficos se utilizarán el diagrama de cajas o bigotes.Se aplicaron las pruebas estadísticas para homogenizar la muestra y luego análisis de varianza (ANOVA), para evaluar la diferencia significativa entre los diámetros. El análisis post anova Tukey permitió identificar la dilución con la que se obtuvo el mayor tamaño de halo de inhibición.

2.6. ASPECTOS ÉTICOS:

Para el presente trabajo de investigación se tomó en cuenta las medidas de bioseguridad para el personal que obtiene y manipula muestras biológicas en laboratorio.²⁸ (Ver anexo 5)

III. RESULTADOS

Tabla 1. EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS de *Psidium guajava* L “Guayaba” SOBRE CEPAS DE *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 COMPARADO CON AMPICILINA, ESTUDIO IN VITRO

Datos Descriptivos								
Tratamiento								
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
100%	10	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
75%	10	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
50%	10	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
25%	10	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
AMPICILINA	10	30.70	1.337	.423	29.74	31.66	28	32

Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

Interpretación:

En la tabla N° 1 se evidencia que el extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L “guayaba” sobre cepas de *Listeria Monocytogenes* ATCC 19118, no tuvo efecto antibacteriano sobre la cepa de *Listeria Monocytogenes* sin embargo la ampicilina (Gold estándar) si mostro halo de inhibición de 30,70 mm. Desviación estándar $1,337 \pm 0,423$ mm con valor mínimo de 28mm y máximo 32 de halo de inhibición y IC 95%(29.74 - 31.66).

Tabla 2. EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS de *Psidium guajava* L “Guayaba” SOBRE CEPAS DE *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 COMPARADO CON AMPICILINA, ESTUDIO IN VITRO

ANALISIS DE VARIANZA ANOVA

ANOVA					
GRUPOS	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7539.920	4	1884.980	5268.578	.000
Dentro de grupos	16.100	45	.358		
Total	7556.020	49			

Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

Interpretación:

En la tabla N° 2 al realizar el análisis estadístico ANOVA los resultados en el experimento fueron altamente significativos ($p=0.000$) con lo cual podemos inferir que el extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L “Guayaba” no tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Listeria monocytogenes*.

TABLA 3. Prueba Post hoc De Tukey en el EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS de *Psidium guajava* L “Guayaba” SOBRE CEPAS DE *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 COMPARADO CON AMPICILINA, ESTUDIO IN VITRO.

PRUEBAS POST HOC DE TURKEY

GRUPOS			
HSD Tukey ^a			
Subconjunto para alfa = 0.05			
ENSAYOS	N	1	2
100%	10	.00	
75%	10	.00	
50%	10	.00	
25%	10	.00	
AMPICILINA	10		30.70
Sig.		1.000	1.000

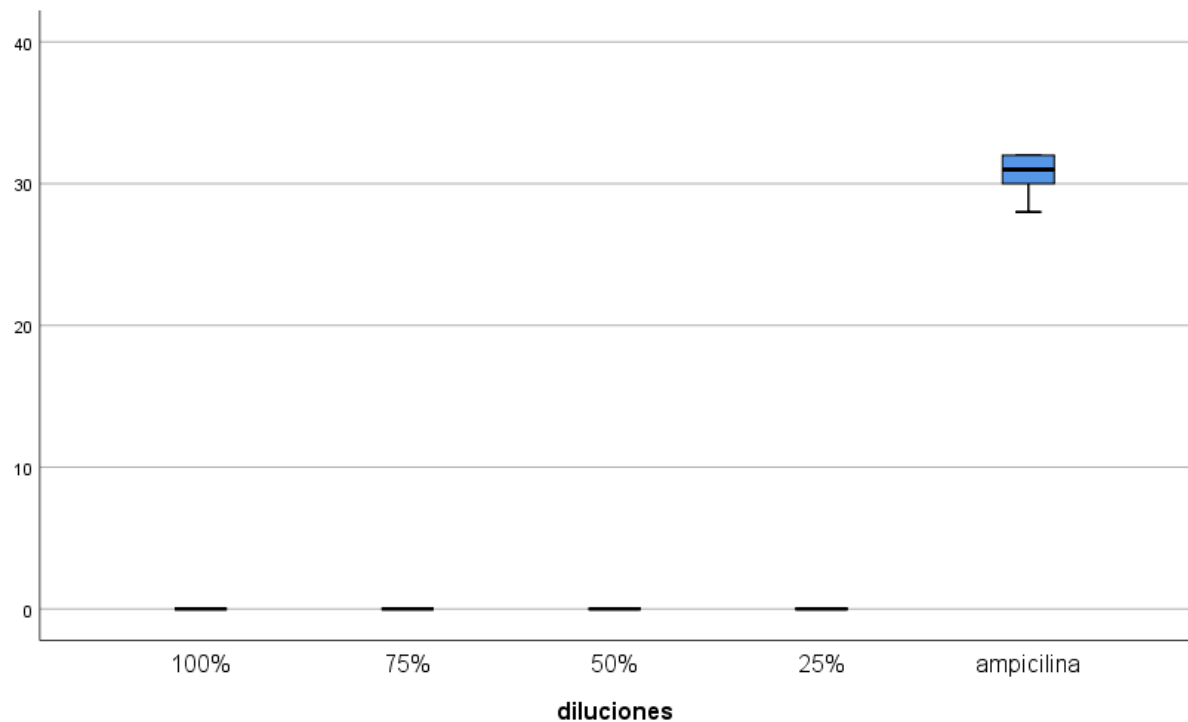
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10.000.

Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

Interpretación:

En la tabla N° 3 al realizar el análisis post ANOVA de TUKEY se observa que la planta no demostró (no sensible) tener efecto antibacteriano.



Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

FIGURA 1. EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS de *Psidium guajava* L "Guayaba" SOBRE CEPAS DE *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 COMPARADO CON AMPICILINA, ESTUDIO IN VITRO.

Interpretación:

En el grafico N° 1 se visualiza mejor lo anterior mencionado donde la cepas de *Listeria monocytogenes* no es sensible a ninguna de las concentraciones.

IV. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L “guayaba” sobre cepas de *Listeria Monocytogenes* ATCC 19118 comparado con ampicilina a 10µg, estudio in vitro por lo cual se realizaron diferentes concentraciones del extracto (4) y adicional se consideró control neutro; se muestra los resultados a continuación:

En la tabla N° 1 se evidencia que el extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L “guayaba” sobre cepas de *Listeria Monocytogenes* ATCC 19118, no tuvo efecto antibacteriano sobre la cepa de *Listeria Monocytogenes* sin embargo la ampicilina (Gold estándar) si mostró halo de inhibición de 30,70 mm. Desviación estándar $1,337 \pm 0,423$ mm con valor mínimo de 28mm y máximo 32 de halo de inhibición y IC 95%(29.74 - 31.66). según lo establecido por el estándar M45 del instituto de estándares clínicos y de laboratorio CLSI (≥ 17 mm). Comparado con el estudio realizado por **Egharevba, H. et al**⁸ encontraron que los extractos de las hojas de *Psidium guajava*, el acuoso, de metanol, acetato de etilo, hexano. Sí mostró tener efecto antibacteriano sobre *Listeria monocitogenes* con zonas de inhibición de 25mm, 30mm, 27mm y que el hexano no mostró tener efecto antibacteriano, tomando como referencia el estándar M45 del CLSI(≥ 17 mm).

Mahfuzul MD. et al¹⁰ evaluó el efecto antibacteriano de las hojas del extracto etanólico de *Psidium guajava* L sobre 5 cepas de *Listeria monocitogenes*, se halló la zona de inhibición 21.9 ± 0.26 mm evidenciando tener efecto antibacteriano y como parecido al gold estándar se utilizó a la gentamicina fue 22.9 ± 0.56 mm. **Vega B.**¹⁴ estudió la sensibilidad antimicrobiana de diferentes tipos de *Listeria* (*monocytogenes*, *innocua* y *ivanovii*) encontrándose como resultados de la ampicilina sobre *L. monocytogenes* con zonas de inhibición: 37 mm, 38,5 mm, 22 mm, 36mm, 22mm, 27mm.

Por otro lado otros estudios realizados de la *Psidium guajava* L. sobre otras bacterias mostró tener actividad antimicrobiana, **Thiyagarajan S.**⁶ encontraron que el extracto etanólico *Psidium guajava* L. mostró halos de inhibición para *E. Coli*, (15 a 18 mm) *V. choleraea*, (14 a 19 mm) y *salmonella* (12 a 14 mm). **Biswas B.**⁷ evidencio que la *Psidium guajava* L. tiene actividad antibacteriana sobre *S. aureus* (11 mm), *B. cereus* (6 mm).

Goncalves FA.⁹ evidencio actividad antibacteriana del extracto alcohólico de la *Psidium guajava* L frente a *Staphylococcus aureus* (9,25 mm). **Rogerio N.**¹¹ evidencia que el extracto acuoso y

etanol de la *Psidium guajava* L. tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* (a CMI: 500mg/cc) y *Bacillus subtilis* (500mg/cc).

Abdelrahim S.¹² evidencio que la *Psidium guajava* L. tiene efecto antibacteriano sobre *Bacillus subtilis* (18mm), *Staphylococcus aureus* (20mm), *Escherichia coli* (22mm), *Pseudomonas aeruginosa* (20mm). **Vieira R.**¹³ evidencia que el extracto de etanol presentó actividad antibacteriana sobre *E. coli* (18 a 32mm) y *S. aureus* (20 a 30mm).

Rattanachaikunsopon P.¹⁵ Evaluó la actividad antibacteriana de los flavonoides presentes en las hojas de la *Psidium guajava* L. y mostró que la presencia de flavonoides (morin-3-O-lixósido, morin-3-O-arabinósido, quercetina y quercetina-3-O-arabinosido), tienen una acción bacteriostática sobre la *listeria monocytogenes*. **Ravi K.**³⁰ evaluó el potencial antimicrobiano de las hojas de *Psidium guajava* L. mencionando que los flavonoides tienen un efecto sinérgico sobre las bacterias. La acción antibacteriana de la quercetina se debe probablemente a la ruptura de la membrana y la inactivación de las proteínas extracelulares al formar complejos irreversibles. La guaijaverina de las hojas de guayaba tiene su efecto bacteriostático al inhibir el crecimiento bacteriano.

En la tabla N° 2 al realizar el análisis estadístico ANOVA los resultados en el experimento fueron altamente significativos($p=0.000$) con lo cual podemos inferir que el extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L “Guayaba” no tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Listeria monocytogenes*.

En la tabla N° 3 al realizar el análisis post ANOVA de TUKEY se observa que la planta no demostró (no sensible) tener efecto antibacteriano.

En el grafico N° 1 se visualiza mejor lo anterior mencionado donde la cepas de *Listeria monocytogenes* no es sensible a ninguna de las concentraciones. Acosta L²⁹ la diferencia encontradas en los resultados de los antecedentes y los de nuestra investigación, podría deberse a la calidad de los componentes fitoquímicos de las plantas influenciadas por el terreno de cultivo, el medio ambiente, clima o la técnica para su cultivo, cosecha y conservación, elementos que pueden estar alterando la calidad de la planta. Lo que explicaría la diferencia en los halos de inhibición en los diferentes países estudiados.

V. CONCLUSIÓN

- 1) El extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L “*guayaba*” no evidenció tener efecto antibacteriano en ninguna de las concentraciones evaluadas.
- 2) La ampicilina si mostró tener efecto antibacteriano sobre cepas de *Listeria monocytogenes* en las primeras 24h con un halo de inhibición de 30,7mm.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar el efecto antibacteriano de las hojas de *Psidium guajava* L “guayaba” de otras regiones sobre listeria monocytogenes y otras bacteria patógenas para el ser humano.
- Realizar el estudio en otros tipos de extractos.
- Continuar realizando investigaciones que promuevan la búsqueda de alternativas de origen natural que puedan servir como tratamiento coadyuvantes, los cuales actúen sinérgicamente con distintos fármacos.
- Desarrollar estrategias de estudio de los diferentes terrenos debido a que hay regiones en Perú distintas con características propias para cada una y la planta asimila sus nutrientes según el terreno donde la cultivan y el efecto que se espera de la planta es mayor o menos de lo que espera.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Paciel D, Medina J. Enfermedad por *Listeria monocytogenes*: Listeriosis invasiva en adultos. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. 2016 (citado:14 septiembre/2016). Disponible en : https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwj_4rfFiNPTAhXEwiYKHftpDIAQFgghMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.infectologia.edu.uy%2Findex.php%3Foption%3Dcom_k2%26Itemid%3D305%26id%3D225_7509db84efc1ae2ecd1baccf9e24f42a%26lang%3Des%26task%3Ddownload%26view%3Ditem&usg=AFQjCNFXJxzqyvp3W1HynFKsEN5lYoMhpw&sig2=4ldhmEuEb7sjajEOTQIV1g
2. Parrilla P, Vaqué J. Estudio de la incidencia de listeriosis en España. GacSanit(Barcelona).2014; 28(1):74–76 (citado: 5 de junio de 2017).Disponible en : https://www.clinicalkey.es/service/content/pdf/watermarked/1-s2.0-S0213911113000538.pdf?locale=es_ES
3. Díaz J, Salvador J, Maguiña C, Cok J. Listeriosis in pregnancy. Rev. Med. Hered.2017; 28:29-32.(Citado:21/05/2017). Disponible en: <http://www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/revistas/index.php/RMH/article/viewFile/3070/3022>
4. Díaz M, Chávez M, Saucedo E. *Listeria monocytogenes* en leche y queso fresco como vehículo transmisor de listeriosis humana en la Provincia de Trujillo, Perú. Revista “Ciencia y Tecnología”, Escuela de Postgrado – UNT.2013; 9(2).(Citado: 08/05/2017) Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/268>
5. Rodríguez R, Lafourcade A, Pérez L. Hojas de *Psidium guajava* L. Rev Cubana Farm.2013;47(1):127-135.(citado:17/6/17). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152013000100014
6. Thiagarajan S, Jamal A. Evaluation of lethal activity of *Psidium guajava* L. extracts on bacterial pathogens causing diarrheal infections. Res. Ayurveda Pharm 2015; 6(1): 111-117.(Citado:01/02/2015). Disponible en: http://www.ijrap.net/admin/php/uploads/1310_pdf.pdf

7. Biswas B, Rogers K, McLaughlin F, Daniels D, Yadav A. Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram- Negative and Gram-Positive Bacteria. International Journal of Microbiology. Research Article. 2013; Vol 2013: 7 (Citado: 28/04/2017). Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2013/746165/>

8. Egharevba H, Ibrahim I, Nneka I, Makailu A, Simon O, et al. Broad Spectrum Antimicrobial Activity of *Psidium guajava* L. Leaf. Nature and Science 2010; 8(12): 43-50. (Citado: 7/05/2017). Disponible en : http://www.sciencepub.net/nature/ns0812/06_3354ns0812_43_50.pdf

9. Gonçalves A, Andrade M, Bezerra N, Macrae A, Sousa V, Fonteles-Filho AA, et al. Antibacterial activity of GUAVA, *Psidium guajava* Linnaeus, leaf extracts on diarrhea-causing enteric bacteria isolated from Seabob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller). Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 2008; 50(1):11-5. (Citado: 1/05/2017). Disponible en : <http://www.scielo.br/pdf/rimtsp/v50n1/a03v50n1.pdf>

10. Mahfuzul D, Bari L, Inatsu Y, Vijay K, Juneja, Kawamoto S. M.D. Antibacterial Activity of *Psidium guajava* L. and *Azadirachta indica* A. Juss. Extracts Against Foodborne Pathogens and Spoilage Bacteria. Mary Ann Liebert, Inc. 2007; 4(4): 481-488. (citado: 4/06/2017) Disponible en : <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/fpd.2007.0040?journalCode=fpd>.

11. Rogério N, Garcia A, Simone M, Vataru C, Prado B. An Evaluation of Antibacterial Activities of *Psidium guajava*. Brazilian Archives of Biology and Technology. An International journal. 2005; 48(3): 429-436. (citado: 05/05/2017). Disponible en : http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132005000300014

12. Abdelrahim S, Almagboul A, Omer M, Elegami A. Antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. Elsevier 2002; 73(1): 713–715. (Citado: 20/05/2017). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Elegamib+A.+Antimicrobial+activity+of+Psidium+guajava+L.+2002>

13. Vieira R, Rodrigues P, Gonçalves A, Menezes F, Aragão S, Sousa V. Microbicidal effect of medicinal plant extracts (*Psidium guajava* LINN. and *Carioca papaya* LINN.) upon bacteria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*. 2001; 43 (3): 145-148. (Citado: 05/06/2017). Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652001000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=en
14. Vega A. Sensibilidad antimicrobiana de cultivos de *Listeria* sp. Aislados de lugares de expendido de pollo y queso provenientes de mercados de la ciudad de Trujillo. [tesis bachiller]. Perú: dirección de sistemas de informática y comunicación, Universidad Nacional de Trujillo; 2013.
15. Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. Contents and antibacterial activity of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajava*. *J Med Plant Res* [internet]. 2010 [17/02/2019]; 4(5): 393-396. disponible en: http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1380531661_Rattanachaikunsopon%20and%20Phumkhachorn.pdf
16. Nicolás J. Manual de plantas medicinales del altiplano de Guatemala para uso familiar. Guatemala. ediciones médicas descaltos; 2013.
17. Mejía K, Rengifo E. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. 2da ed. Lima (Perú). Agencia Española de Cooperación Internacional; 2000
18. Villar M, Villavicencio V, Oscar. Manual de fitoterapia. Lima (Perú). Organización panamericana de la salud; 2001
19. Murray R, Rosenthal S, Pfaller A. Microbiología Médica. 7^{ma} ed Barcelona (España): Elsevier; 2014.
20. Brooks F, Carroll C, Butel S, Morse A, Mietzner A. Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología Médica. Barcelona (España): McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V.; 2011.
21. Diccionario manual de la lengua española. Madrid (España): Larousse Editorial, S.L. ; 2007

22. Brunton L, Chabner B, Knollmann B. Goodman y Gilman Las Bases de la Terapéutica Médica. 12ª ed. España: McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V.;2012
23. Duraffourd C, D'hervocourt L, Lapraz JC. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. Barcelona, España: Edit. Masson S.A.;1986.
24. Dawson B, Trapp R. Bioestadística médica. 4ª ed. México: El Manual Moderno;2005.
25. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación. 5ta Ed. México: McGraw-Hill-Interamericana;2010;170-191.
26. Horna J. Efecto antifúngico de la óleo-resina de *copaiferapaupera* comparado con fluconazol sobre candida albicans, estudio in vitro. [tesis bachiller]. Trujillo (Perú): universidad César Vallejo;2015.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. USA:2016.
28. Organización Mundial de la Salud. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ra ed. Ginebra:2005
29. Acosta de la Luz L. Principios agroclimáticos básicos para la producción de plantas medicinales. Rev Cubana Plant Med[sitio en internet].2003[15/02/19]; 7 (6): 361-383. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962003000100008
30. Ravi K, Divyashree P. Psidium guajava: A review on its potential as an adjunct in treating periodontal disease. Pharmacognosy Rev[internet].2014[15/02/19]; 8(16): 96-100. disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25125881>

VIII. ANEXOS:

Anexo 01

Tamaño de la muestra:

$$n = \frac{(z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$
$$n = \frac{(1,96 + 0,84)^2 2(0,26)^2}{(21,9 - 22,3)^2}$$

$$n = 6,62 = 7$$

n = 10 Placas Petri para cada grupo.

Dónde:

$$Z_{\frac{\alpha}{2}} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

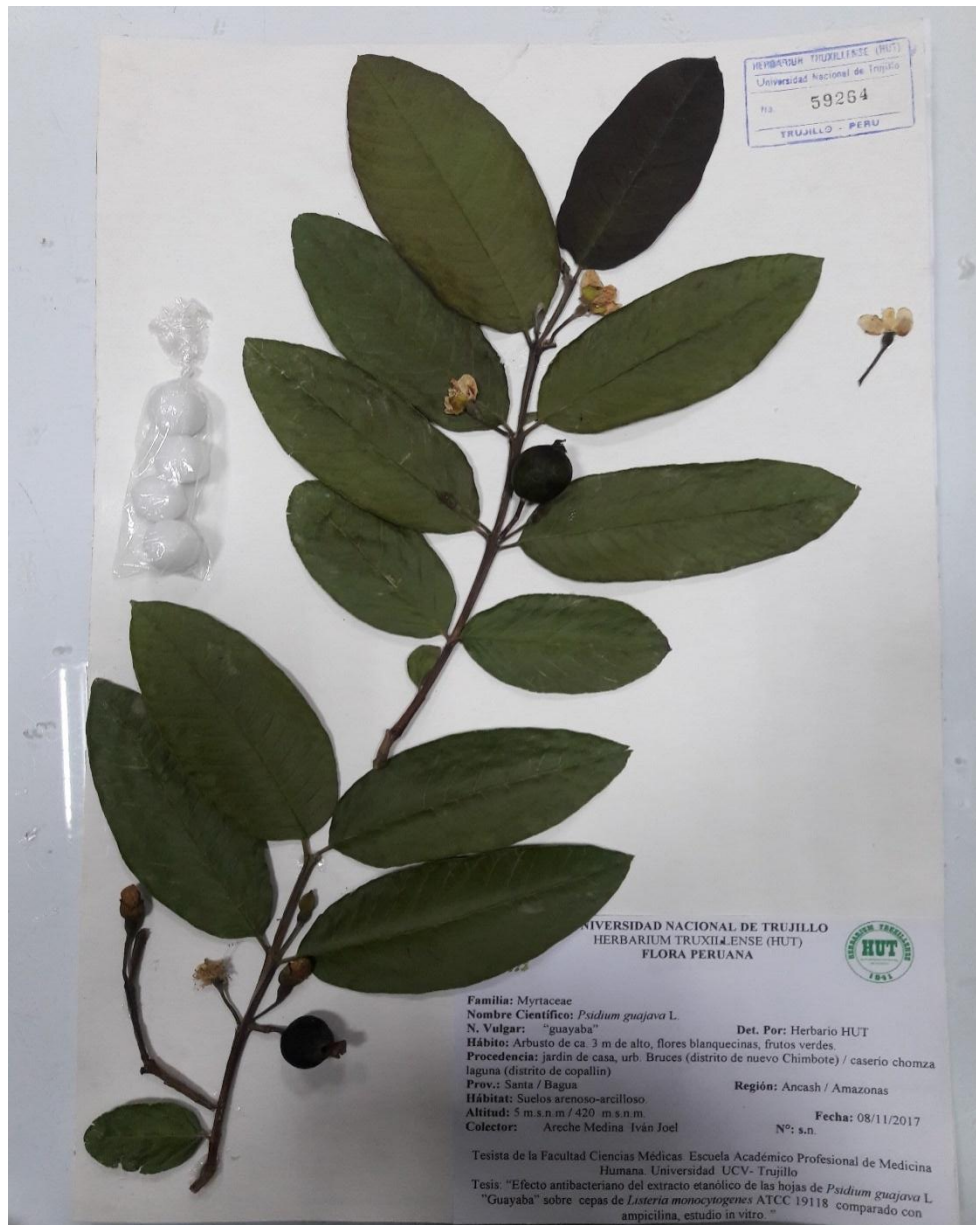
$$\bar{x}_1 = 21,9 \text{ mm: (referencia, 10)}$$

$$\bar{x}_2 = 22,3 \text{ mm: (referencia, 14)}$$

$$\sigma: 0,26 \text{ mm: (referencia, 10)}$$

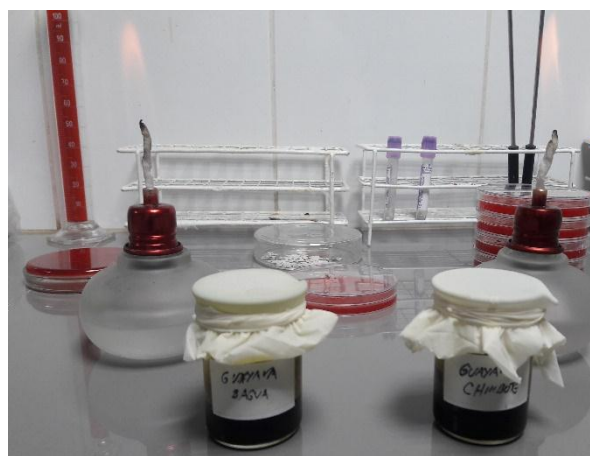
ANEXO 02

Determinación Taxonómica de *Psidium guajava* L "Guayaba" por el HERBARIO TRUXILENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO TRUJILLO – PERU



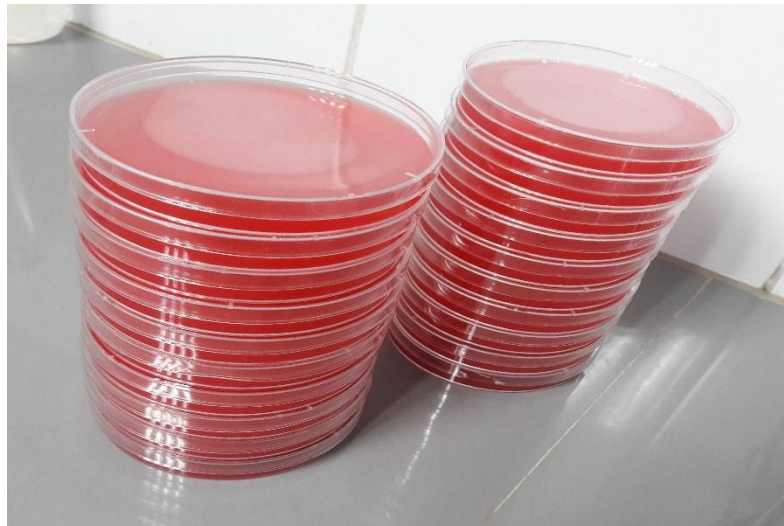
1. Elaboración del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* (método de la maceración)

Se recolectaron 1 kg de las hojas de *Psidium guajava* luego se eliminará las sustancias extrañas (polvo, microorganismos vivos) presentes en el material vegetal luego se procederá al lavado del material vegetal con agua clorada destilada. Una vez lavado las hojas se procederá a adecuar la droga vegetal en papeles Kraft, y se secará al aire a 37°C durante 24 horas y las hojas secadas se cortaron en pequeños trozos y luego se procederá a homogenizar el tamaño de partículas. Se guardará en un frasco de vidrio de boca ancha. En un envase estéril de vidrio ámbar de boca ancha de 4 litros de capacidad, se colocarán 100 g de hojas estrujadas previamente y homogenizadas. Luego, se añadirá etanol al 96 % cantidad suficiente hasta cubrir la muestra por sobre 2 cm de altura. Se mezclará bien, teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las $\frac{3}{4}$ partes del recipiente. Se tapará el recipiente y se macerará en ausencia de luz por 7 días, agitándose 10 minutos, 2 a 4 veces al día. Transcurrido el tiempo de maceración, se hizo una doble filtración. Primero se filtró a través de una gasa estéril y segundo a través de un papel filtro Whatman N°41. Este filtrado, se evaporó por ventilación con corrientes de aire frío en circuito cerrado en estufa, por 1 a 2 días, hasta que quede a una concentración mayor a 100 mg/mL. De este modo, se obtuvo el extracto etanólico (EE) considerado al 100%; el cual, se reservó en un frasco de vidrio ámbar a 4°C–6°C hasta su utilización. A partir de este extracto seco se prepararán las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% disueltas en etanol al 96%.¹⁴



2. Preparación de la cepa *Listeria monocitogenes*

En el Laboratorio universidad cesar vallejo previa obtención de la cepa *Listeria monocitogenes* ATCC 19118, serán recuperadas en placas con agar Oxford a 30°C por 24 horas y luego traspasadas a frascos conteniendo agar nutritivo a 30 °C por 24-48 horas. Luego de haber reactivado los cultivos, de tres a cinco colonias serán transferidas a solución fisiológica 0,9 %, para la obtención de una suspensión bacteriana con un patrón de turbidez McFarland 0,5; el equivalente a 10^8 UFC/ml. Se prepararán placas Petri con agar sangre (12 – 15 ml por placa) a 45° C aproximadamente, estas se dejarán secar por unos minutos en estufa para eliminar el exceso de humedad y se procederá a sembrar (suspensión bacteriana ya preparada) con ayuda de un hisopo estéril sobre la superficie de las placas Petri en todas las direcciones.¹⁴



3. Determinación del efecto antimicrobiano de la *Psidium guajava* L.

Preparación de las concentraciones del EE

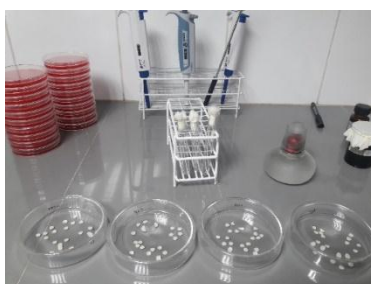
A partir del EE, se prepararán 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfoxido (DMSO); para ello, se rotularán 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocará 750 μ L de EE y 250 μ L de DMSO al tubo de 75%, 500 μ L de EE y 500 μ L de DMSO al tubo de 50%, y 250 μ L de EE y 750 μ L de DMSO al tubo de 25%. Sobre la superficie de la placa ya sembrada con la suspensión bacteriana (inóculo) se colocará con ayuda de una pinza estéril los discos de las concentraciones anteriormente mencionadas.^{14,27}

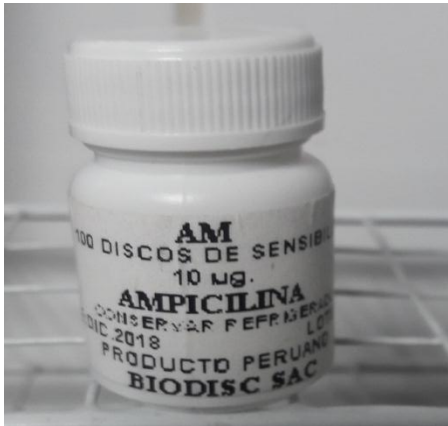
Disco de Difusión Técnica de Kirby-Bauer

Mediante la difusión de discos de Kirby-Bauer que consiste en preparar discos de papel de filtro Whatman Nº 1 estériles de 6 mm de diámetro cada uno, Considerando de manera individual cada concentración. Se usó 10 μ L de EE a una dilución que alcance el 25% y se introdujo en cada disco, 10 μ L de EE al 50% en otros discos, 10 μ L de EE al 75% aplicados en otros discos y 10 μ L de EE al 100% en los últimos discos. El proceso se realizó repitiéndolo en diez oportunidades, éstos se colocarán sobre los cultivos de *Listeria monocitogenes* ATCC 19118 en



las placas petri previamente preparadas a 1cm del borde de las Placas Petri y colocándolos equidistantemente. Además se colocará los discos de la ampicilina de 10 μ g y el control negativo. Se reposó por espacio de 15 minutos y posteriormente dichas placas se invirtieron y se trasladó a la incubadora a temperatura entre 35 hasta 37°C por espacio de 18 a 24h. Posteriormente, se llevará a cabo la lectura de los resultados, mediante la inspección visual de cada placa y estimando con regla de vernier y se registró en milímetro de los halos de inhibición del crecimiento de *Listeria monocitogenes* ATCC 19118.^{14,27}





ANEXO 3

MATRIZ DE RECOLECCION DE DATOS

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS PARA MEDIR EL TAMAÑO DE LOS HALOS DE INHIBICION
(mm) SOBRE CEPAS DE *Listeria monocytogenes* ATCC 19118

Nº DE PLACAS	CONCENTRACION DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Psidium guajava</i> L "guayaba"				CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	100%	75%	50%	25%	AMPICILINA 10ug	DMSO
	Diámetro del halo de inhibición (mm)					
PLACA 1	0	0	0	0	28	0
PLACA 2	0	0	0	0	31	0
PLACA 3	0	0	0	0	31	0
PLACA 4	0	0	0	0	30	0
PLACA 5	0	0	0	0	29	0
PLACA 6	0	0	0	0	31	0
PLACA 7	0	0	0	0	31	0
PLACA 8	0	0	0	0	32	0
PLACA 9	0	0	0	0	32	0
PLACA 10	0	0	0	0	32	0
Promedio del diámetro del halo de inhibición	0	0	0	0	30.70	0

ANEXO 04

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO <i>(Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)</i>		CONSTRUCTO <i>(Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)</i>		RELEVANCIA <i>(El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)</i>		COHERENCIA INTERNA <i>(El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)</i>		CLARIDAD <i>(El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)</i>		SUFICIENCIA <i>(Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)</i>	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	X		X		X		X		X		X	
2	X		X		X		X		X		X	
3	X		X		X		X		X		X	

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES				SI	NO	OBSERVACIÓN
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos				X		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación				X		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial				X		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir				X		
VALIDEZ						
APLICABLE	X	NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN		

Instrumento validado por:


 Firma y sello
 Jaime A. P. Gamboa
 MICROBIOLOGO
 CSP 0201


 Firma y sello
 UNIVERSIDAD VALLEJO
 FACULTAD CIENCIAS MEDICAS
 UCV
 M.C. David García Cejón
 DOCENTE T.P. ESCUELA MEDICINA
 UCV. CAMPUS TRUJILLO


 Firma y sello
 Marcel B. Chiriz Rimar
 MEDICINA INTERNA
 CSP 30034 PMS 1000

ANEXO 5

Bioseguridad para el área de laboratorio clínico

- Se Utilizará permanentemente en el área de trabajo los elementos de protección personal: mascarilla, gorro, bata blanca y guantes.
- Cuando el procedimiento lo amerite o se presuma un probable riesgo de Salpicadura, usar delantal plástico.
- Los recipientes para muestras pueden ser de vidrio o, preferiblemente, de plástico. Deben ser fuertes y no permitir fugas cuando la tapa o el tapón estén correctamente colocados.
- Se Realizará los procedimientos empleando las técnicas correctas para minimizar el riesgo de salpicaduras o derrames.
- Si se usará pipetas automáticas para evitar cualquier riesgo de contaminación oral. El pipetear líquidos con la boca es una práctica inadecuada y altamente riesgosa.
- Las cánulas, tubos contaminados y demás elementos de trabajo deben someterse a procesos de desinfección, desgerminación y esterilización en autoclave; igual tratamiento deberá darse a las cánulas, tubos y demás elementos de trabajo.
- A los tubos de ensayo con sangre en coágulos, se les debe colocar hipoclorito de sodio a 5000 ppm. durante 30 minutos, taparlos y una vez desechado este contenido, proceder a la desgerminación y esterilización mediante calor húmedo o seco para su posterior reutilización.
- Los demás fluidos orgánicos (flujos, cultivos, entre otros) deben tratarse mediante desinfección con hipoclorito a 5.000 ppm. durante 30 minutos.
- El material contaminado que deba ser desechado fuera del laboratorio, debe introducirse en recipientes resistentes, que se cerrarán antes de sacarlos del laboratorio, estos a su vez se depositaran en bolsa Roja rotulada como: “Riesgo Biológico – material contaminado a incinerar”, y entregarla al personal del Aseo para su disposición final.
- Los procedimientos que entrañan manipulación de cultivos de células infectadas, manejo de material con elevadas concentraciones de bacterias y actividades que generen aerosoles o gotitas como en los procedimientos de homogeneización y mezcla rigurosa, deben llevarse a cabo utilizando cabinas de seguridad biológica.
- El personal de Microbiología, debe utilizar además del equipo de protección personal básico, la mascarilla de alta eficiencia.

- En forma permanente se deben conservar las puertas del laboratorio cerradas, evitar el ingreso de personas ajenas al área; si ello ocurre éstas deben ser informadas sobre los posibles riesgos y deberán cumplir con las normas exigidas dentro del laboratorio. Igualmente se debe restringir el acceso de niños.
- Limite el empleo de agujas y jeringas utilícelas solo cuando sea estrictamente necesario. En tales casos emplea las precauciones universales indicadas.
- Se tomará en cuenta los protocolos de calidad del comité nacional de estándares de laboratorio clínico (NCCLS), revisando los parámetros M2, M23, M45, M100.

M2: estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por disco.

M23: desarrollo de criterios y parámetros de control de calidad para pruebas de susceptibilidad in vitro.

M26: Métodos para determinar la actividad bactericida de los agentes antimicrobianos

M100: estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

ANEXO 6

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: GRUPOS

HSD Tukey

(I) ENSAYOS	(J) ENSAYOS	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
100%	75%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	50%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	25%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	AMPICILINA	-30.700*	.267	.000	-31.46	-29.94
75%	100%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	50%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	25%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	AMPICILINA	-30.700*	.267	.000	-31.46	-29.94
50%	100%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	75%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	25%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	AMPICILINA	-30.700*	.267	.000	-31.46	-29.94
25%	100%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	75%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	50%	.000	.267	1.000	-.76	.76
	AMPICILINA	-30.700*	.267	.000	-31.46	-29.94
AMPICILINA	100%	30.700*	.267	.000	29.94	31.46
	75%	30.700*	.267	.000	29.94	31.46
	50%	30.700*	.267	.000	29.94	31.46
	25%	30.700*	.267	.000	29.94	31.46

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 7



CONSTANCIA DE ASESORÍA DE DESARROLLO DE TESIS

El que suscribe **MG. Bgo. POLO GAMBOA, JAIME ABELARDO**, Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académico Profesional de Medicina.

CERTIFICA:

Que, de conformidad con el Reglamento para elaboración y evaluación de Proyectos de Tesis para obtener el Título Profesional Médico Cirujano, del alumno: **IVÁN JOEL ARECHE MEDINA**, de esta casa de estudios, está trabajando bajo mi asesoramiento el Proyecto de Tesis titulado:

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS de *Psidium guajava* L. SOBRE *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 COMPARADO CON AMPICILINA

Que será presentado para optar el Título anteriormente mencionado.

En tal virtud, asumo el asesoramiento de dicho proyecto, en calidad de Asesor técnico, tarea voluntaria y de cooperación académica con la Escuela de Medicina.

Expedido el presente a solicitud de la parte interesada para los fines académicos que estime conveniente, la Ciudad de Trujillo a los 30 días del mes de enero del 2019.


.....
MG. Bgo. POLO GAMBOA, JAIME ABELARDO
AMPROLOGO
CBP 6251

ANEXO 8



CONSTANCIA DE EJECUCION DEL DESARROLLO DE TESIS

El que suscribe **MG. Bgo. POLO GAMBOA, JAIME ABELARDO**, Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académico Profesional de Medicina.

Hace constar:

Que, el estudiante **IVÁN JOEL ARECHE MEDINA** de esta superior casa de estudios, solicitó los ambientes de la universidad Cesar Vallejo para la ejecución de su desarrollo de tesis. Por lo que, se le brindó todas las facilidades para que realice su trabajo de investigación experimental e hizo uso de los laboratorios, instrumental y equipos para ejecutar su desarrollo de tesis titulado:

EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS de *Psidium guajava* L. SOBRE *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 COMPARADO CON AMPICILINA

Utilizó el(los) laboratorio(s) de microbiología desde el 10 de noviembre hasta el 15 de diciembre del 2017.

Se expidió el presente a solicitud de la parte interesada solo para fines académicos que estime conveniente. Dado en la ciudad de Trujillo a los 30 días de enero del 2019.



Jaime A. Polo Gamboa
MG. Bgo. POLO GAMBOA, JAIME ABELARDO
CCP 0001

ANEXO 9

This document has been translated by the Translation and Interpreting Service of Cesar Vallejo University and it has been revised by the English native speaker: Mark Stables.



Mg. Ana Gonzales Castañeda
Lecturer of the School of Languages